



外傷と重症敗血症症例における血漿mitochondrial DNAレベルの経時的変化と病態との関連

著者	山内 聡
号	83
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医第3473号
URL	http://hdl.handle.net/10097/58067

氏 名	やまのうち さとし 山内 聡
学位の種類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 26 年 3 月 5 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 2 項
学位論文題目	外傷と重症敗血症症例における血漿 mitochondrial DNA レベルの経時的変化と病態との関連
論文審査委員	主査 教授 久志本 成樹 教授 館 正弘 教授 石井 正

論文内容要旨

近年、感染症における全身性炎症反応のメカニズムとして、病原微生物に由来し炎症を惹起する分子パターンである Pathogen-associated molecular patterns (PAMPs)が、Toll-like receptor などのパターン認識受容体を介して自然免疫を賦活化することの重要性が示されている。一方、非感染性病態における炎症反応は、生理的に細胞内に存在し、細胞外に遊離することにより炎症を惹起する分子パターンとしての alarmins がパターン認識受容体を介したシグナル伝達を行うという感染症と同様のメカニズムが重要な役割をすることが解明されつつある。

近年、外傷後の炎症反応の中心的役割を担っているのがミトコンドリアである可能性が報告され、とくにミトコンドリアの構成成分である mitochondrial DNA (mtDNA)が alarmins として注目されている。一方、敗血症においては、mtDNA の血中への出現、病態生理学的役割や臨床的意義はまだ十分に解明されていない。

目的：外傷と重症敗血症症例の血漿中mtDNAレベルの変化とその機序、重症度との関連を検討することを目的として、次の2つの仮説について検証した。

仮説1：外傷後の炎症反応に重症であるとされるmtDNAは、外傷症例の重症度あるいは予後予測指標となる。

仮説2：重症敗血症症例において、mtDNA が alarmins として全身性炎症反応病態の形成へ関与し、重症度あるいは予後予測指標となる。

対象と方法：解剖学的外傷重症度の指標である Abbreviated Injury Scale 3 以上の損傷を有する外傷および重症敗血症症例を対象として、前向き観察研究を行った。血漿中 mtDNA 値の測定は、サンプル中の細胞成分や血小板の影響を除くために濾過した血液を用いて、real-time polymerase chain reaction にて施行した。本測定により得られた mtDNA レベルにより、①外傷症例、重症敗血症症例における経時的推移、②横紋筋融解症の指標である creatine phosphokinase (CPK)値との関係、③入院時の生理学的重症度の指標である Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II スコア、臓器障害重症度の指標である Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)スコア、外傷の解剖学的重症度の指標である Injury Severity Score (ISS)との関連、および、④転帰との関係を検討した。

結果：①血漿中 mtDNA レベルは、外傷症例では入院時 (Day 1)に最大となりその後低下したが、敗血症症例では、Day 1 に上昇後、Day 5 まで高値のままであった。②外傷症例では、Day 1 の mtDNA 値は、CPK の最大値と相関したが($R^2=0.46$, $P=0.05$)、敗血症症例ではいずれの病日の CPK 値とも相関を認めなかった。③外傷症例では、Day 1 の mtDNA 値は APACHE II スコア、

SOFA スコアと相関しないが、ISS と相関した ($R^2 = 0.36$, $P < 0.01$)。敗血症症例では、APACHE II スコア、SOFA スコアと相関を認めなかった。

④外傷死亡例では、Day 1 の mtDNA 値が非外傷例と比較し有意に上昇していたが ($P < 0.05$)、敗血症では死亡例における有意な上昇を認めなかった。

結論: 外傷症例と重症敗血症症例の mtDNA レベルの時間的推移は異なる。外傷症例においては、損傷を受けた組織や低灌流となった組織から受動的に放出されると推測され、重症敗血症症例では CPK 値との相関関係がなく、能動的分泌などの異なった機序で放出されると推測される。外傷症例においては、mtDNA は解剖学的重症度の指標である ISS と相関し、また 28 日死亡症例の Day 1 の mtDNA 値は、28 日生存症例と比較し有意に高値であり、重症度あるいは予後予測指標となる可能性が示唆された。一方、敗血症においては、alarmins としての mtDNA の全身性炎症反応病態の形成への関与、mtDNA レベルの重症度、転帰への影響に関しては明らかではなく、さらなる評価が必要である。

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題目 外傷と重症敗血症症例における血漿 mitochondrial DNA レベルの経時的変化と病態との
関連

氏名 山内 聡

感染症における全身性炎症反応のメカニズムとして、病原微生物に由来し炎症を惹起する分子パターンである Pathogen-associated molecular patterns が、Toll-like receptor などのパターン認識受容体を介して自然免疫を賦活化することの重要性が示されている。一方、非感染性病態では、生理的に細胞内に存在し、細胞外に遊離することにより炎症を惹起する alarmins が同様のメカニズムで生体反応を惹起することが示されている。しかし、多くの alarmins が、それぞれの病態でどのような役割を果たしているのかは明らかにされていない。

近年、外傷後の炎症反応の中心的役割を担っているのがミトコンドリアである可能性が報告され、とくにミトコンドリアの構成成分である mitochondrial DNA (mtDNA) が alarmins として注目されている。一方、敗血症においては、mtDNA の血中への出現、病態生理学的役割や臨床的意義は十分に解明されていない。申請者は、これらの臨床病態における問題に対して、外傷と重症敗血症症例の血漿中 mtDNA レベルの変化とその機序、重症度との関連を検討し、病態形成への関与を明らかにすることを目的として、次の2つの仮説について検証を行った。

- 1 ; 外傷後の炎症反応に重症であるとされる mtDNA は、外傷症例の重症度あるいは予後予測指標となる。
- 2 ; 重症敗血症症例において、mtDNA が alarmins として全身性炎症反応病態の形成へ関与し、重症度あるいは予後予測指標となる。

重症外傷および重症敗血症症例を対象とした前向き観察研究により、血漿中 mtDNA 値の測定を real-time polymerase chain reaction にて施行した。本測定により得られた mtDNA レベルにより、①外傷症例、重症敗血症症例における経時的推移、②横紋筋融解症との関係、③生理学的重症度、臓器障害重症度および外傷の解剖学的重症度との関連、④転帰との関係を検討し、以下の結果を示した。

結果：①mtDNA レベルは、外傷では入院時に最大となりその後低下したが、敗血症では入院から第5病日まで高値のままであった。②外傷では、受傷直後の mtDNA 値は横紋筋障害と相関したが、敗血症ではこれらの関係を認めていない。③外傷では、入院時 mtDNA 値は外傷の解剖学的重症度と相関を認めたが、敗血症では生理学的および臓器障害重症度と相関を認めない。さらに、④外傷においてのみ、死亡例で mtDNA レベルの有意な上昇を認めた。

以上の結果より、外傷症例と重症敗血症症例の mtDNA レベルの時間的推移は異なり、外傷症例においては、mtDNA は損傷を受けた組織や低灌流となった組織から受動的に放出され、重症敗血症症例では能動的分泌などの異なった機序で放出される可能性を示した。さらに、外傷においては、mtDNA は解剖学的重症度と関連するとともに予後予測指標となる可能性を明らかにした。一方、敗血症においては、alarmins としての mtDNA の全身性炎症反応病態の形成への関与、mtDNA レベルの重症度、転帰への影響は外傷とは異なることを示した。

これらの知見は、急性期侵襲病態の解明に新たな展開を示すものであり、世界の本領域における臨床および研究に与えるインパクトは大きなものであると考えられる。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。

学力確認結果の要旨

平成 26 年 1 月 15 日、審査委員出席のもとに、学力確認のための試問を行った結果、本人は医学に関する十分な学力と研究指導能力を有することを確認した。

なお、英学術論文に対する理解力から見て、外国語に対する学力も十分であることを認めた。